

DOI: 10.11766/trxb202105310284

刘红涛, 胡天龙, 王慧, 张燕辉, 郭世伟, 谢祖彬. 典型水稻土细菌亚类群—泛化种、特化种的群落构建及功能潜力[J]. 土壤学报, 2023, 60 (2): 546–557.

LIU Hongtao, HU Tianlong, WANG Hui, ZHANG Yanhui, GUO Shiwei, XIE Zubin. Community Assembly and Functional Potential of Habitat Generalists and Specialists in Typical Paddy Soils[J]. Acta Pedologica Sinica, 2023, 60 (2): 546–557.

典型水稻土细菌亚类群—泛化种、特化种的群落构建及功能潜力*

刘红涛^{1, 2}, 胡天龙^{1, 2}, 王 慧^{1, 2}, 张燕辉^{1, 2}, 郭世伟³, 谢祖彬^{1†}

(1 土壤与农业可持续发展国家重点实验室 (中国科学院南京土壤研究所), 南京 210008; 2 中国科学院大学, 北京 100049; 3 南京农业大学资源与环境科学学院, 南京 210095)

摘 要: 泛化种和特化种对碳及养分等资源利用存在很大差异, 在土壤能量和养分循环中发挥着独特功能。目前农田微生物研究主要针对整个细菌、真菌、古菌或其他功能群落, 对农田生态系统细菌泛化种和特化种的认识还很缺乏。因此, 为探究典型水稻土细菌泛化种和特化种的群落结构、驱动机制及在氮循环中的功能, 根据第二次土壤普查数据, 从我国东部 (江苏、安徽、上海) 和西南部 (贵州、云南) 采集 16 个土壤表层样品 (0~20 cm), 进行理化性质测定和高通量测序, 并对获得的数据进行相应的生态学分析。结果表明, 在所有的 OTUs 中, 3.28% 被归为泛化种, 9.07% 被归为特化种。泛化种和特化种在门水平的分布模式不同, 特化种在绿弯菌门 (Chloroflexi)、放线菌门 (Actinobacteria)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae)、厚壁菌门 (Firmicutes) 和浮霉菌门 (Planctomycetes) 中所占的比例高于泛化种。基于 β 多样性零模型的群落构建分析表明, 泛化种与特化种均由确定性过程主导, 与特化种相比, 泛化种受随机性过程的影响更大。驱动泛化种和特化种群落结构变异的环境因子不同, pH、年均降雨量、黏粒含量、全氮是驱动泛化种群落结构变异的主导因素, 而特化种群落结构变异由 pH 和黏粒含量主导。对泛化种和特化种的共现网络和鲁棒性分析发现, 特化种网络联系更多、结构更复杂、鲁棒性更强。FAPROTAX 功能预测发现, 生物固氮功能主要存在于泛化种中。本研究在细菌亚群落层面研究典型水稻表层土细菌泛化种和特化种的群落结构、环境驱动因子、构建过程、共现网络特性和氮循环相关功能, 为稻田细菌群落演变和调控提供了理论依据。

关键词: 水稻土; 泛化种; 特化种; 生态位宽度; 群落构建; 共现网络鲁棒性

中图分类号: Q142; S154.3 **文献标志码:** A

* 国家自然科学基金项目 (31870500)、国家科技基础性工作专项 (2015FY110700) 和江苏省农业科技自主创新资金项目 (CX (20) 2003) 资助 Supported by the National Natural Science Foundation of China (No. 31870500), the Special Project on the Basis of National Science and Technology of China (No. 2015FY110700) and Jiangsu Agriculture Science and Technology Innovation Fund (No. CX (20) 2003)

† 通讯作者 Corresponding author, E-mail: zbxie@issas.ac.cn

作者简介: 刘红涛 (1995—), 女, 江苏宿迁人, 硕士研究生, 主要从事微生物生态学研究。E-mail: liuhongtao@issas.ac.cn

收稿日期: 2021-05-31; 收到修改稿日期: 2021-10-30; 网络首发日期 (www.cnki.net): 2022-01-21

Community Assembly and Functional Potential of Habitat Generalists and Specialists in Typical Paddy Soils

LIU Hongtao^{1,2}, HU Tianlong^{1,2}, WANG Hui^{1,2}, ZHANG Yanhui^{1,2}, GUO Shiwei³, XIE Zubin^{1†}

(1. State Key Laboratory of Soil and Sustainable Agriculture, Institute of Soil Science, Chinese Academy of Sciences, Nanjing 210008, China; 2. University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; 3. College of Resource and Environmental Sciences, Nanjing Agricultural University, Nanjing 210095, China)

Abstract: 【Objective】 Great differences exist in the utilization of carbon and nutrients between habitat generalists and specialists, which play unique roles in the cycle of soil energy and nutrients. At present, the research on farmland microorganisms mainly focuses on the whole bacteria, fungi, archaea or other functional communities, and the understanding of habitat generalists and specialists in farmland ecosystems is still lacking. Therefore, this study was designed to explore the community structure, assembly mechanism and possible functions of habitat generalists and specialists in typical paddy soils in eastern and southwestern China. 【Method】 Sixteen surface soil samples (0–20 cm) were collected from the eastern area (Jiangsu, Anhui, Shanghai) and southwestern area (Guizhou and Yunnan) of China according to the data of the second soil survey, and their physico-chemical properties and next generation high-throughput sequencing were analyzed. 【Result】 The results showed that 3.28% of all OTUs were classified as habitat generalists while 9.07% as habitat specialists. There were significant differences in species composition between habitat generalists and specialists. At the level of phylum, the proportions of habitat specialists in *Chloroflexi*, *Actinobacteria*, *Nitrospirae*, *Firmicutes* and *Planctomycetes* were higher than those of habitat generalists. The analysis of the community assembly process based on the β diversity null model showed that habitat generalists and specialists were dominated by deterministic process. Compared with habitat specialists, habitat generalists were more affected by the stochastic process. The environmental factors driving the community structure variation of habitat generalists and specialists were different. pH, mean annual precipitation, clay content and total nitrogen were the main factors driving the community structure variation of habitat generalists, while the community structure variation of habitat specialists was dominated by pH and clay content. By analyzing the co-occurrence network and robustness of habitat generalists and specialists, it was found that the habitat specialists' network had more connections, more complexed structure and stronger robustness. The functional prediction by FAPROTAX showed that biological nitrogen fixation mainly existed in habitat generalists. 【Conclusion】 Information derived from the community structure, environmental driving factors, assembly process, co-occurrence network characteristics and related functions of nitrogen metabolism of habitat generalists and specialists, provides a theoretical basis for the evolution and regulation of bacterial communities in paddy fields.

Key words: Paddy soil; Habitat generalist; Habitat specialist; Niche breath; Community assembly; Co-occurrence network robustness

土壤细菌在促进作物增产、有机物降解和养分循环等方面发挥了重要作用^[1]。土壤细菌群落中两类重要的生态类群—泛化种和特化种，可共存于同一生境^[2]，但栖息地的范围存在很大差异。泛化种可在多种生境中生存，利用特化种未利用的生境和较高的功能可塑性形成生存优势，并在形成新物种和维持多样性方面发挥着关键作用^[3]。特化种对特定资源的依赖性大，只能利用一种或几种生境，在特定生境中具较强竞争力。但特化种对生境的专一性强，易受环境变化影响，灭绝的风险高^[4-6]。由于泛

化种和特化种对资源利用、环境适应以及微生物间的相互作用存在很大差异，因此，泛化种和特化种在碳和养分循环中执行着不同的功能，并具有不同的环境驱动因子、群落构建机制和共现网络特征。目前对细菌泛化种和特化种研究集中于山地^[7]、高原湖泊^[8]、沿海滩涂^[9]等自然生态系统。对农田生态系统的研究主要针对整个细菌^[10]、真菌^[11]、古菌^[12]或其他功能群落^[13]，泛化种和特化种的群落结构、构建机制、共现网络特征和功能特点未见相关深入研究，识别这些重要生态类群对理解农田土壤碳及

养分循环至关重要。

微生物群落构建机制一直是微生物生态学的研究热点,有两大公认的构建过程—确定性过程和随机性过程。确定性过程认为环境条件(如 pH、盐度、温度、湿度等)和种间相互作用(竞争、捕食等)是调控微生物群落结构的主导因素;相反,随机性过程则认为微生物群落结构不取决于物种特征(如丰度、代谢和形态等),而是由出生、死亡、定殖、灭绝、迁移等随机因素调控^[14]。目前研究认为,微生物的群落构建由确定性过程和随机性过程共同发挥作用^[15]。泛化种和特化种具有不同的生物特性,对环境的耐受性和资源的利用存在很大差异。因此,确定性过程和随机性过程的相对重要性在泛化种和特化种的群落构建过程中发挥了不同的作用。如 Luo 等^[7]研究发现,山地生态系统中,泛化种的群落构建由确定性过程和随机性过程共同决定,特化种的群落构建由确定性过程决定,随机性过程不发挥作用;Liao 等^[8]研究发现,高原湖泊生态系统中,泛化种的群落构建由随机性过程驱动,特化种的群落构建由确定性过程驱动。但泛化种和特化种的群落构建过程在人为干扰强烈的稻田生态系统中仍不明确,了解泛化种和特化种的群落构建过程将有利于更好地理解稻田生态系统微生物多样性的维持机制。

微生物在生态系统中并非孤立存在,而是与其他类群产生正向和负向交互作用,构成一个调节生态系统功能的生态网络^[16-17],越来越多的研究利用网络特性来可视化生态系统中微生物的共现关系^[18]。共现网络分析能明晰微生物类群之间直接或间接的相互作用,确定微生物群落关键物种,表征土壤理化性质与微生物群落之间的关系,是揭示微生物之间相互作用、群落成员间生态位偏好及微生物与环境相互作用的强有力工具^[17-19]。如 Ma 等^[20]利用共现网络研究土壤中整个细菌群落的网络特征。除度量共现网络中的拓扑参数,其他指标如网络鲁棒性(当复杂网络结构的某一部分遭到破坏后,网络功能继续保持的能力)也被广泛应用于研究网络拓扑特性^[21]。Liang 等^[22]研究发现,网络拓扑结构是影响网络鲁棒性的主要因素,不同网络拓扑结构表现出不同的鲁棒性特征;Barberan 等^[17]研究发现,泛化种和特化种具有不同的网络拓扑结构,与泛化种相比,特化种的连接更多,分区更多。但目前尚

不清楚稻田生态系统细菌泛化种和特化种的共现网络特征及鲁棒性强弱。

氮素是生命体重要的营养元素。在稻田生态系统中,有大量微生物参与固氮、矿化、硝化和反硝化等氮循环过程^[23]。但泛化种和特化种对氮素的获取和利用存在何种差异,尤其是生物固氮,仍未见报道。弄清泛化种和特化种与氮循环相关的功能有助于将微生物群落与生态系统的功能联系起来。我国稻田分布广泛,大的空间跨度为微生物提供了空间上高度变化的栖息环境;且水稻种植期间的干湿交替过程为土壤微生物提供了在时间上高度变化的栖息环境。空间和时间上的环境异质性为土壤微生物提供了高度多样化的生态位,更有利于检测到泛化种和特化种。因此,稻田生态系统为研究泛化种和特化种的群落构建和功能潜力提供了一个良好的生态系统模型。本研究根据第二次土壤普查数据,从我国东部(江苏、安徽、上海)和西南部(贵州、云南)采集 16 个土壤表层样品(0~20 cm)。拟解决以下三个问题:(1)稻田生态系统中泛化种和特化种群落构建机制存在怎样的差异?(2)特化种的共现网络鲁棒性是否强于泛化种?(3)泛化种和特化种在土壤氮循环中扮演了怎样的角色?

1 材料与方法

1.1 研究概况和样品采集

根据第二次土壤普查数据,于 2015 年 10 月水稻收割后从我国东部(江苏、安徽、上海)和西南部(贵州、云南)采集 16 个土壤表层样品(0~20 cm)(表 1),每个样点按“S 型”采集 5 个样混匀。样品采集后放入冰盒尽快运回实验室,剔除根和小石块等杂质,分为三部分,一部分提取土壤总的 DNA,另一部分风干测定土壤基本理化性质,其余样品保存于-80℃冰箱,用于其他实验。

1.2 土壤理化性质测定和气候数据获取

土壤基本理化指标测定参照《土壤农业化学分析方法》^[24]。测定的土壤理化指标包括土壤机械组成、有机质(SOM)、pH、全磷(TP)、全钾(TK)、有效磷(AP)、速效钾(AK)。土壤黏粒含量测定采用比重法;SOM 测定采用重铬酸钾氧化-外加热法;土壤 pH 采用酸度计法(土:水 1:5);TP、TK 测定采用复合酸溶/电感耦合等离子体发射光谱

表 1 采样点基本情况

采样点 Site	采样编号 Sample ID	经度 Longitude	纬度 Latitude	pH	有机质 SOM/ (g·kg ⁻¹)	全磷 TP/ (g·kg ⁻¹)	全钾 TK/ (g·kg ⁻¹)	有效磷 AP/ (mg·kg ⁻¹)	速效钾 AK/ (mg·kg ⁻¹)	黏粒含量 Clay content/% (<0.002 mm)	轮作方式 Rotation	年均温 Mean annual temperature (°C)	年均降雨量 Mean annual precipitation /mm
江苏邳州	a195	117°46'29"	34°18'42"	7.85	28.93	1.05	18.50	57.38	174.55	5.48	水-旱	14.44	683
江苏如皋	a227	120°32'46"	32°10'01"	8.00	23.58	0.93	15.15	29.35	66.50	12.99	稻-麦	15.12	1 005
江苏无锡	a306	120°29'50"	31°33'51"	5.27	33.74	0.77	13.63	36.12	128.84	5.72	稻-麦	15.85	986
江苏常州	a455	119°57'36"	31°34'28"	5.85	25.34	0.44	13.39	25.36	137.15	5.61	稻-麦	15.62	1 040
安徽安庆	a418	116°49'48"	30°16'57"	5.65	15.51	0.68	16.03	29.51	75.00	17.6	稻-稻-肥	16.95	1 497
安徽合肥	a361	117°47'42"	31°53'38"	5.21	19.82	0.36	21.58	8.99	95.00	15.20	稻-油	15.60	1 061
安徽长丰	a460	117°12'39"	32°22'58"	6.09	13.29	0.36	14.96	14.69	90.00	19.56	稻-稻-肥	15.46	929
上海青浦	a242	121°0'23"	30°57'35"	6.17	33.4	0.7	16.44	35.41	103.90	5.27	稻-麦	16.02	1 028
贵州熔岩	f353	107°49'28"	26°12'45"	6.54	54.42	0.76	13.19	27.38	132.99	10.85	稻-油	15.69	1 203
贵州毕节	f354	107°29'11"	27°42'07"	5.34	28.48	0.27	17.20	10.03	78.96	17.41	稻-麦	14.67	1 106
贵州铜仁	f356	107°44'19"	27°17'31"	7.45	50.68	0.86	14.16	24.15	187.02	7.16	稻-油轮作	15.02	1 130
贵州久安	f319	106°35'09"	26°31'36"	5.06	94.14	0.71	12.17	9.62	191.18	11.37	稻-谷	14.59	1 123
贵州都匀	f274	107°27'10"	26°19'17"	6.22	53.22	0.7	9.98	14.8	95.59	23.93	稻油-稻麦	14.38	1 210
云南保山	f339	100°14'12"	26°41'02"	7.45	61.4	0.89	15.46	37.22	166.24	13.25	水稻-蚕豆	12.15	807
云南曲靖	f287	100°19'33"	25°35'56"	7.45	62.38	0.77	21.46	32.97	153.77	26.32	稻-麦-稻-豆	14.63	834
云南昭通	f340	101°14'42"	24°27'37"	5.15	31.07	0.58	21.60	77.17	132.99	46.19	水稻	15.89	992

法; AP 测定采用联合浸提-比色法; AK 测定采用乙酰胺浸提/电感耦合等离子体发射光谱法。

年均温 (AMT) 和年均降雨量 (AMP) 数据获取: 每个采样点的 AMT 和 AMP 数据采用插值法从 Worldclim 网站获取, 选用的数据为 1970—2000 年的平均值。

1.3 土壤总 DNA 提取、PCR 扩增及 Illumina Miseq 测序

称取 0.5 g 新鲜土壤样品, 采用 FastDNA Spin Kit for Soil 提取试剂盒 (MP Biomedicals, Santa Ana, CA, USA) 提取土壤微生物总 DNA, 利用 NanoDrop ND-2000 (Thermo Fisher, USA) 分析提取的土壤总 DNA 的浓度和质量, 并通过 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。将土壤 DNA 样品纯化后并稀释至 $10 \text{ ng} \cdot \mu\text{L}^{-1}$, 利用细菌 16S rRNA 基因的通用引物 515F (GTGCCAGCMGCCGCGG) 与 907R (CCGTCAATTCMTTTRAGTTT) 扩增其 V4-V5 区基因片段^[25], 正向引物 515F 的 3' 端加入已知碱基序列的分类标签 (Barcode) 以区分不同样品。PCR 反应体系为 20 μL , 其中含 Premix 10 μL 、上游引物 0.4 μL 、下游引物 0.4 μL 、DNA 模板 1 μL , 加无菌水补足 20 μL 。PCR 扩增的反应条件为: 95°C , 5 min; $30 \times (95^\circ\text{C}, 30 \text{ s}; 57^\circ\text{C}, 30 \text{ s}; 72^\circ\text{C}, 45 \text{ s})$; 72°C , 10 min。PCR 产物用 1% 的琼脂糖凝胶电泳检测其完整性。使用 AxyPrep DNA Gel Extraction Kit 回收试剂盒回收扩增的目的片段, 具体操作按说明书进行。凝胶纯化后的 PCR 产物使用 Illumina Miseq 2000 测序平台的双端测序方法进行测序分析, 该测序平台由南京土壤研究所仪器分析中心提供。本研究的 DNA 序列已存入 NCBI (National Center for Biotechnology Information) 数据库的 SRA (Sequence Read Archive) 中, 登录号为 PRJNA773174。

1.4 生物信息分析

16S rRNA 测序基因序列使用 QIIME 1.9.0 (Quantitative Insights Into Microbial Ecology, <http://qiime.sourceforge.net/>) 进行分析^[26]。去除质量低于 20, 长度小于 200 bp 的序列^[27], 得到 367 750 条高质量基因序列。使用 UCLUST 算法按照 97% 相似性将序列划分为不同的操作分类单元 (OTU)^[28]。物种注释选择 Greengenes 数据库 (<http://greengenes>。

ibl.gov/)。为了进行样品间多样性比较, 将所有样品序列统一抽平到 11 318 条计算多样性和物种组成。

1.5 生态位宽度计算

本研究中生态位宽度按照 Pandit 等^[29]描述, 使用 Levins 生态位宽度指数计算每个 OTU 生态位宽度, 具体公式如下:

$$B_j = \frac{1}{\sum_i^n P_{ij}^2}$$

式中, B_j 表示 OTU_{*j*} 的生态位宽度, P_{ij} 表示一个给定的生境 *i* 中 OTU_{*j*} 的相对丰度 (如, 本研究中 16 个样地中的一个)。计算出整个细菌群落的平均 B 值, 作为生态位宽度指标。去除丰度低于 5 的 OTUs, 这类 OTUs 可能被错误地归类于特化种中。本研究将 $B_j > 8.7$ 归为泛化种 (大于 8.7 的 B 值为离群点, 这类细菌类群可在广泛的生境中存在); 将 $B_j < 1.5$ 归为特化种 (1.5 被认为是最小的生态位宽度值, 这类细菌类群只能在特定的生境中生存); 将 $1.5 \leq B_j \leq 8.7$ 归为其他细菌类群。

1.6 数据分析

利用 R 软件中 “vegan”^[30] 包进行冗余分析, 确定环境变量和细菌群落组成之间的相关性。根据 Tucker 等^[31]的方法, 计算 β 多样性零偏差, 衡量确定性和随机性过程的相对贡献。构建共现网络探究水稻土细菌泛化种、特化种的网络结构差异。利用 R 软件中 “psych” 包进行相关性分析, 计算 OTUs 间的秩相关性, 选择相关性显著且强度高 ($r > 0.6$ 和 $P < 0.01$) 的 OUTs, 利用 igraph 包^[32] 构建网络。利用软件 Gephi 对网络数据进行统计分析和可视化^[33]。利用多级模块优化算法计算网络模块化指数^[34-35]。计算顶点的度中心性、介数中心性、紧密中心性和特征向量中心性来确定细菌群落网络中顶点的重要性。采用同时目标攻击的方法, 依据顶点重要性, 从高到低地移除顶点, 测试网络鲁棒性^[21, 36]。利用 FAPROTAX1.2.4 软件通过分类注释进行功能预测, 探究泛化种和特化种氮循环相关功能^[37]。

2 结果

2.1 泛化种和特化种的群落结构

去除丰度低于 5 的 OTUs 后, 得到 4 575 个 OTU, 其中 150 个 OTU 被确定为泛化种 (3.28%), 415 个

OTU 被确定为特化种 (9.07%), 4 010 个 OTU 被确定为其他细菌类群 (87.65%)。

从 367 750 个高质量序列中确定了 19 448 个 OTU, 根据物种注释的结果 (图 1), 本研究在细菌门水平挑选出相对丰度大于 2% 的优势细菌类群, 用于展示泛化种和特化种细菌物种组成。在 16 个水稻土表层土壤样品中, 共注释了 58 个细菌门类, 其中泛化种有 13 个主要门类, 这些主要门类在泛化种中的相对丰度达 86.9%; 特化种有 25 个主要门类, 这些主要门类在泛化种中的相对丰度达 98.1%; 其他细菌类群有 43 个主要门类。根据物种注释的结果, 泛化种中, 变形菌门 (Proteobacteria) (34.25%)

是最丰富的细菌门类, 其次是酸杆菌门 (Acidobacteria) (28.67%)、绿弯菌门 (Chloroflexi) (23.62%)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) (3.98%)、放线菌门 (Actinobacteria) (3.56%)、和厚壁菌门 (Firmicutes) (3.34%); 特化种中, 绿弯菌门 (Chloroflexi) (26.31%) 是最丰富的细菌门类, 其次是变形菌门 (Proteobacteria) (22.86%)、酸杆菌门 (Acidobacteria) (14.44%)、硝化螺旋菌门 (Nitrospirae) (7.01%)、放线菌门 (Actinobacteria) (6.13%)、厚壁菌门 (Firmicutes) (4.73%)、芽单胞菌门 (Gemmatimonadetes) (2.89%)、拟杆菌门 (Bacteroidetes) (2.48%) 和浮霉菌门 (Planctomycetes) (2.43%)。

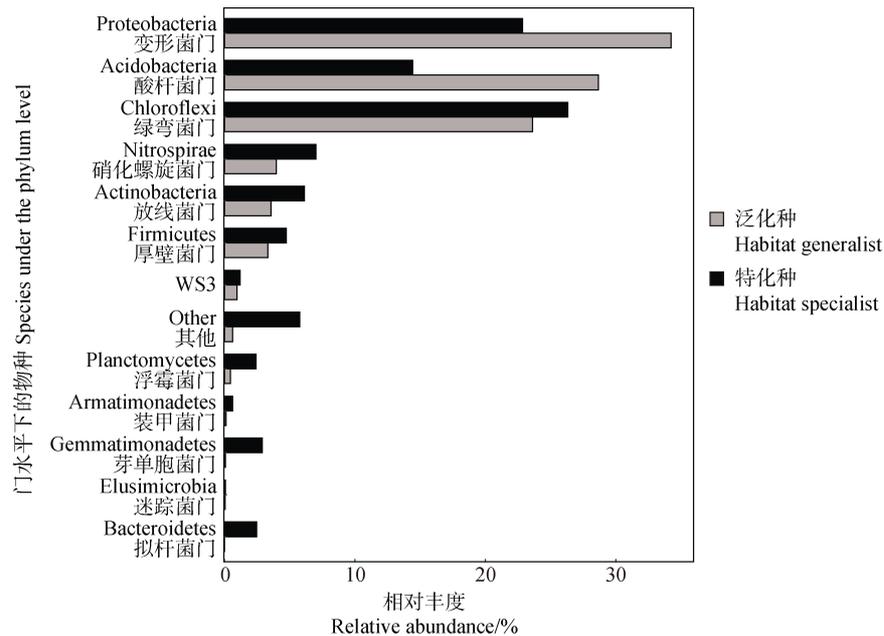


图 1 水稻土细菌门水平物种组成 (泛化种、特化种)

Fig. 1 Relative abundance of bacteria community composition at phylum level (habitat generalist and specialist)

2.2 泛化种和特化种细菌群落组成和环境变量的关系

利用向前选择的方法挑选具有显著性的环境变量, 探究影响泛化种和特化种群落结构变化的关键环境因子 (图 2)。结果表明, 在所有测定的环境因子中, 影响泛化种和特化种群落结构的环境因子不同。其中, pH、AMP、黏粒含量和 TN 与泛化种细菌群落结构变异的相关性较强; 而 pH、黏粒含量与特化种细菌群落结构的变异相关性较强。

2.3 泛化种和特化种群落的构建模式

采用 β 多样性的零偏差分析方法研究确定性过程和随机性过程对泛化种和特化种群落构建的相对

贡献 (图 3)。结果表明, 泛化种和特化种的 β 零偏差值均为正, 且差异显著 ($P < 0.05$), 特化种的零偏差值 (0.53~0.56) 显著高于泛化种的零偏差值 (0.27~0.39)。

2.4 特化种和泛化种的共现网络特征

基于 OTUs 构建了泛化种和特化种的共现网络, 探索泛化种和特化种潜在的相互作用和生态位偏好。(图 4)。通过计算网络分析中常用的一些拓扑特性来描述 OTUs 之间相互关系的复杂模式^[38]。结果表明, 泛化种的共现网络由 152 个节点和 86 条边组成, 特化种的共现网络由 424 个节点和 5 808 条边组成。对拓扑结构参数 (平均路径长度、平均

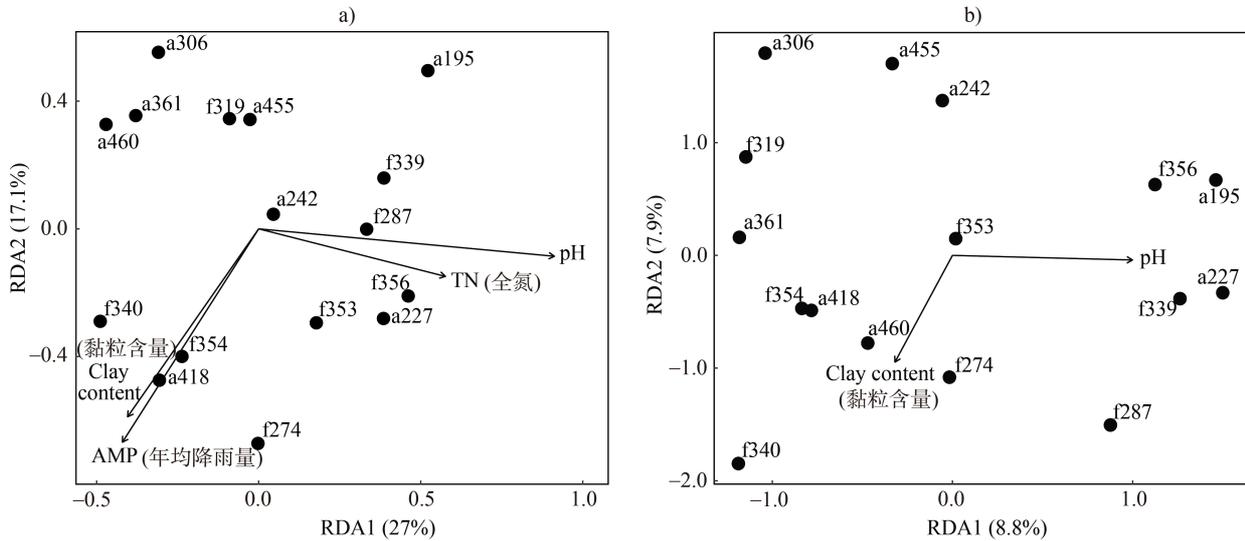
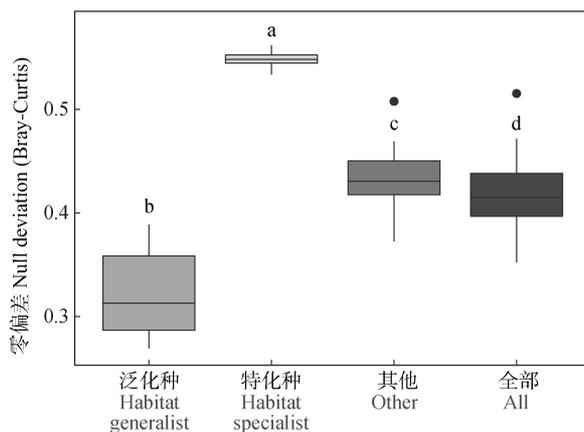


图2 水稻土细菌泛化种 (a) 和特化种 (b) 与环境因子的冗余分析

Fig. 2 Redundancy analysis among habitat generalist (a) and habitat specialist (b) in paddy soils and environmental factors



注: 零偏差值越接近 0 表明随机性过程越重要, 零偏差值越接近-1 或+1 表示确定性过程的影响越重要。Note: A null deviation close to zero suggests that stochastic processes are more important in structuring the community, whereas larger positive or negative null deviations suggest that deterministic processes are more important.

图3 水稻土细菌泛化种和特化种基于 Bray-Curtis 距离零偏差箱线图

Fig. 3 Plots showing the null deviation of soil bacterial community (habitat generalist and specialist)

聚类系数、模块化指数) 进行统计分析发现, 泛化种的节点数、连接数、平均路径长度、平均聚类系数均低于特化种, 特化种 OTUs 间的相互关联更强; 特化种、泛化种模块化指数均大于 0.4, 表明群落具有明显的模块化结构^[17], 且泛化种和特化种各节点之间的相互作用以正相互作用为主。

2.5 泛化种和特化种的鲁棒性差异

对泛化种和特化种进行了鲁棒性测试, 探究泛

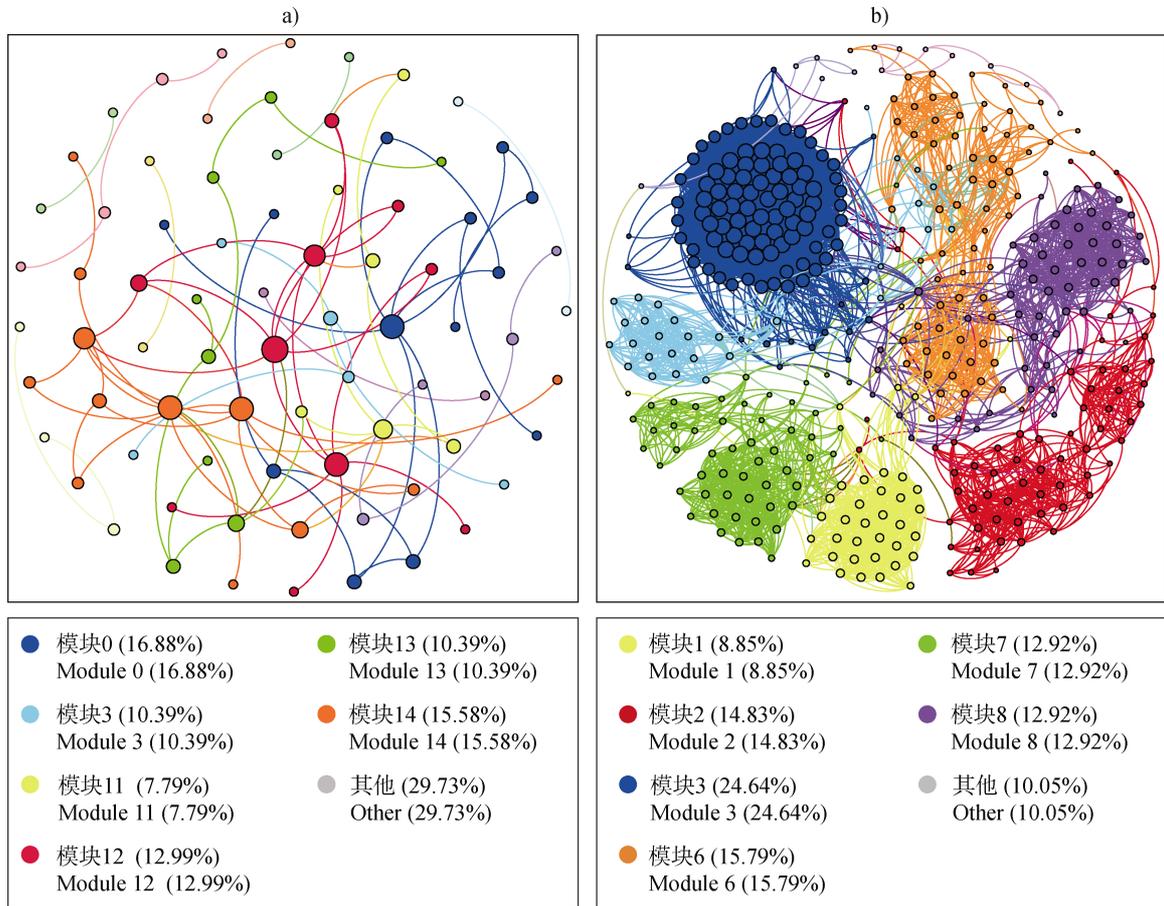
化种和特化种在构建微生物网络中的重要性(图 5)。结果表明, 泛化种和特化种对基于不同中心性测度的同时目标攻击 (Simultaneous Targeted Attack) 表现出不同的鲁棒性。泛化种的度中心性、介数中心性、紧密中心性和特征向量中心性的脆弱值均高于特化种。泛化种对度中心性、介数中心性、紧密中心性和特征向量中心性的同时目标攻击, 网络均会迅速遭到破坏, 表现出较高的脆弱性(图 5a); 特化种对度中心性、紧密中心性、特征向量中心性的同时目标攻击表现出较强的鲁棒性, 而对基于介数中心性的攻击的鲁棒性要低于其他四种攻击(图 5b), 但其鲁棒性仍高于泛化种。

2.6 泛化种和特化种的代谢功能预测

采用 FAPROTAX 功能预测数据库探究泛化种和特化种的氮代谢功能(图 6)。结果表明, 大多数氮代谢功能均由其他细菌类群执行。值得注意的是, 生物固氮功能(泛化种占 82%, 特化种占 0%, 其他细菌类群占 18%) 主要是泛化种在发挥作用。

3 讨论

特化种虽然生态位宽度较窄, 但在特定栖息地中具有较高的适应性。因此, 本研究中, 在细菌门水平检测到特化种门类高于泛化种。这与前人的研究一致^[39], 如 Monard 等^[40]研究发现, 陆地至淡水跨生境细菌群落只有少数细菌类群是泛化种, 大部



注：节点对应微生物的 OTU，边对应微生物间的关联，一个连接代表一个强烈和极显著的相关性，每个节点的大小与该 OTU 的度成正比。Note: A node represents a OUT. A connection stands for a strong and significant correlation. The size of each node is proportional to the degree.

图 4 水稻土细菌泛化种 (a) 和特化种 (b) 共现网络图

Fig. 4 The co-occurrence network analysis of habitat generalist (a) and habitat specialist (b) in paddy soils

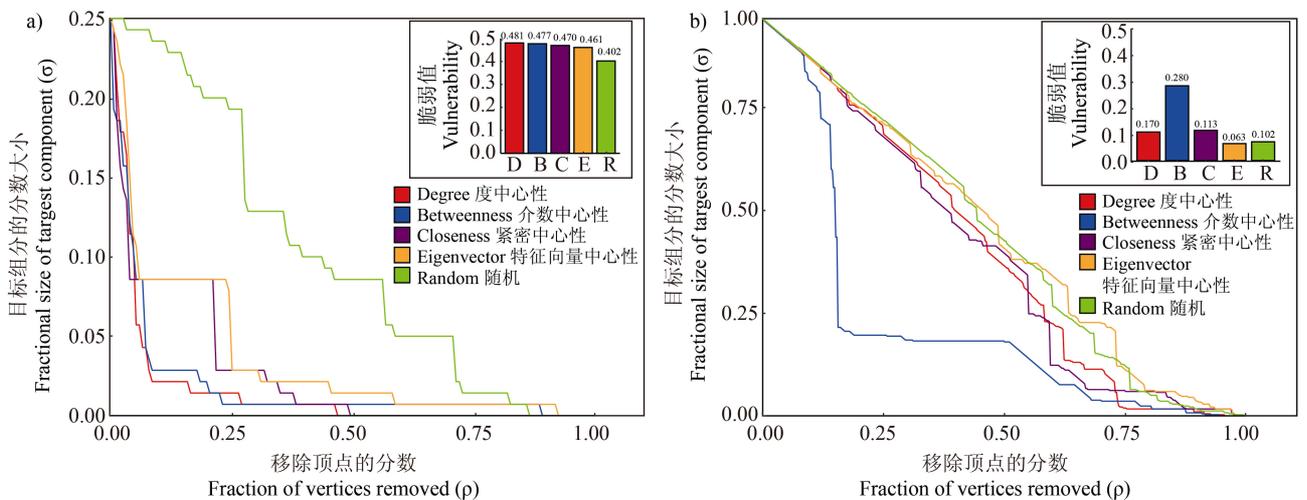


图 5 水稻土细菌泛化种 (a) 和特化种 (b) 鲁棒性图

Fig. 5 Robustness of habitat generalist (a) and habitat specialist (b) in paddy soils

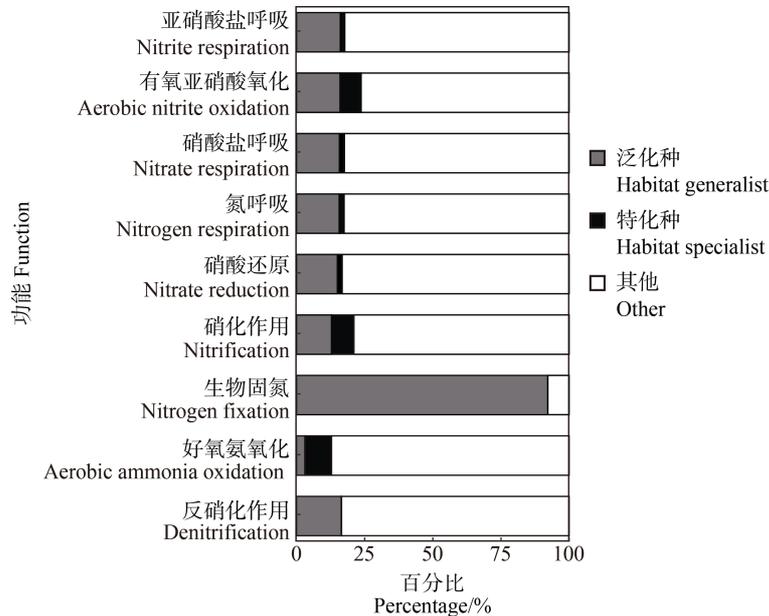


图 6 水稻土细菌泛化种和特化种功能预测图

Fig. 6 Function prediction of habitat generalist and habitat specialist in paddy soils

分检测到的是特化种。本研究表明, 典型水稻表层土 (0~20 cm) 细菌泛化种和特化种在门水平具有不同的分布模式 (图 1)。特化种在放线菌门 (*Actinobacteria*)、硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)、厚壁菌门 (*Firmicutes*)、浮霉菌门 (*Planctomycetes*) 占整个细菌群落的比例高于泛化种。变形菌门 (*Proteobacteria*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 在各类生态系统中广泛存在^[41-43], 前人研究表明, 变形菌门 (*Proteobacteria*)、酸杆菌门 (*Acidobacteria*) 和绿弯菌门 (*Chloroflexi*) 是稻田生态系统主要的细菌类群^[44-45], 本研究结果表明, 这三个细菌门类在泛化种和特化种中的相对丰度均较高。硝化螺旋菌 (*Nitrospirae*) 可进行亚硝化反应, 将亚硝酸盐氧化成硝酸盐, 参与氮代谢; 浮霉菌门 (*Planctomycetes*) 可利用亚硝酸盐氧化铵离子生成氮气, 获得能量, 参与氮循环^[45-46]。硝化螺旋菌门 (*Nitrospirae*)、浮霉菌门 (*Planctomycetes*) 在泛化种和特化种中的相对丰度存在差异, 表明泛化种和特化种对氮素利用能力存在差异, 这可能会影响水稻土中的氮循环过程。

前人有大量研究表明零模型可用于探索确定性过程和随机性过程的相对重要性^[31, 47]。本研究基于 β 多样性零模型, 分析了确定性过程和随机性过程在水稻土细菌泛化种和特化种群落构建的相对重要性 (图 3)。结果表明, 特化种和泛化种的群落构

建均由确定性过程主导, 但泛化种受随机性过程的影响更大。相较于泛化种, 特化种的环境耐受范围较窄, 受随机扩散的影响较小, 这与前人的研究一致^[8]。刘文静等^[42]对旱地、水田和长期淹水的藕田中细菌群落构建模式研究表明, 细菌群落主要由确定性过程主导, 但稻田有一个淹水管理, 导致水田内部环境变化缓和, 增加了随机性过程在细菌群落构建中的重要性。Pandit 等^[29]研究表明, 微生物之所以会展示出复杂的动态结构特征, 主要是由泛化种和特化种的群落构建机制不同造成的。本研究中, 泛化种和特化种在稻田生态系统中均有检测到, 泛化种的群落构建过程受随机性过程的影响较特化种大, 所以稻田生态系统的细菌群落构建由确定性过程主导, 随机性过程亦发挥了一定的作用。

影响稻田细菌泛化种和特化种群落结构变异的环境因子存在差异 (图 2), pH、AMP、黏粒含量、TN 是驱动泛化种群落分布的主导因素, pH、黏粒含量是驱动特化种群落分布的主导因素。大量研究表明, pH 是主导土壤细菌群落分布的主导因素^[48-50]。土壤 pH 会影响微生物群落构建的确定性过程和随机性过程^[51]。泛化种偏向于生活在偏中性的环境中, 特化种在极端环境下占比更高一些。稻田生态系统由于长期淹水, 形成了一个偏中性的环境, 增加了泛化种的比例, 导致稻田生态系统细菌多样性提高^[49]。前人研究发现, 中性环境细菌多样性最高, 较高的

细菌多样性增强了生态系统的功能^[52]。泛化种和特化种群落结构变异均与土壤黏粒含量有关，黏粒含量会影响泛化种和特化种的群落组成。前人研究表明，土壤黏粒含量会影响土壤孔隙连通性，改变土壤空间异质性和微生物间相互作用，从而影响细菌群落结构^[53]。泛化种群落结构变异与 AMP 显著相关，且 AMP 对群落结构的影响与黏粒含量对群落结构的影响相似（图 2），因此，AMP 可能与黏粒含量对细菌群落结构影响的机制相同。Bickel 和 Or^[54]研究表明，降水增加了土壤的水相连通性，增加了微生物间的交互作用和碳的流通，有利于富营养型微生物的生长。随着年均降水量的增加，土壤中富营养型细菌如变形杆菌（Proteobacteria）的相对丰度增加，而寡营养型细菌如硝化螺旋菌（Nitrospirae）的相对丰度会降低^[55]。此外，泛化种群落结构变异与 TN 显著相关，表明其可能与氮素利用有关。

通过共现网络分析发现（图 4），泛化种和特化种群落结构均具有明显模块化结构，且泛化种和特化种内 OTUs 之间的联系以正相互作用为主。这表明水稻土细菌群落之间更易形成一个互利的细菌网络结构。特化种的共现网络较泛化种更复杂，这表明特化种之间可能形成了更多的交互作用，增强其对特定生境的适应能力。对泛化种和特化种的鲁棒性分析发现（图 5），特化种的鲁棒性较泛化种强，在水稻土细菌微生物网络中，特化种对整个细菌群落结构的网络稳定性发挥了更重要的作用。

FAPROTAX 功能预测发现（图 6），泛化种和特化种在土壤氮循环的功能上存在一定差异。泛化种的相对丰度只占整个细菌群落的 3.28%，但 FAPROTAX 功能预测中生物固氮功能占到了 82%，特化种则未检测到这种功能。这可能是由于 FAPROTAX 功能预测软件将已有的功能数据库与可培养的细菌分类进行匹配，目前还有大量的特化种未能被鉴定出来，无法预测其功能。有些特殊的特化种可能也具有生物固氮功能，但由于其丰度较低，在本研究中未检测到。固氮微生物可以利用大气中的氮气，将氮气还原为生物可利用的氨^[56]。因此，泛化种具有生物固氮作用，能够从环境中获取氮素，提高了资源利用率，这可能是泛化种能够在多种生境中生存的原因之一，同时也在稻田土壤氮肥力的维持方面发挥了重要的作用。

4 结 论

典型水稻土细菌泛化种和特化种具有不同的群落结构。与泛化种相比，特化种的微生物群落构建过程受确定性过程影响更大，网络结构更复杂，鲁棒性更强。功能预测显示生物固氮功能主要存在于泛化种中。以上结果表明，泛化种是稻田的生物固氮的主要执行者，而特化种对细菌群落的稳定有重要贡献。

致 谢 本研究得到课题组胡天龙在实验数据分析、王志玲在土样处理方面的帮助，在此表示衷心感谢！

参考文献（References）

- [1] Delgado-Baquerizo M, Bardgett R D, Vitousek P M, et al. Changes in belowground biodiversity during ecosystem development[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2019, 116 (14): 6891—6896.
- [2] Nagelkerke C J, Menken S B J. Coexistence of habitat specialists and generalists in metapopulation models of multiple-habitat landscapes[J]. *Acta Biotheoretica*, 2013, 61 (4): 467—480.
- [3] Sriswasdi S, Yang C C, Iwasaki W. Generalist species drive microbial dispersion and evolution[J]. *Nature Communications*, 2017, 8: 1162.
- [4] Clavel J, Julliard R, Devictor V. Worldwide decline of specialist species : Toward a global functional homogenization?[J]. *Frontiers in Ecology and the Environment*, 2011, 9 (4): 222—228.
- [5] Klaus J M, Noss R F. Specialist and generalist amphibians respond to wetland restoration treatments[J]. *The Journal of Wildlife Management*, 2016, 80 (6): 1106—1119.
- [6] Theriault T W, Kolasa J. Patterns of community variability depend on habitat variability and habitat generalists in natural aquatic microcosms[J]. *Community Ecology*, 2000, 1 (2): 195—203.
- [7] Luo Z M, Liu J X, Zhao P Y, et al. Biogeographic patterns and assembly mechanisms of bacterial communities differ between habitat generalists and specialists across elevational gradients[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2019, 10: 169. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00169>.
- [8] Liao J Q, Cao X F, Zhao L, et al. The importance of neutral and niche processes for bacterial community assembly differs between habitat generalists and specialists[J]. *FEMS Microbiology Ecology*, 2016, 92

- (11): fiw174.
- [9] Hu A Y, Wang H J, Cao M X, et al. Environmental filtering drives the assembly of habitat generalists and specialists in the coastal sand microbial communities of Southern China[J]. *Microorganisms*, 2019, 7(12): 598.
- [10] Liu W J, Graham E B, Zhong L H, et al. Dynamic microbial assembly processes correspond to soil fertility in sustainable paddy agroecosystems[J]. *Functional Ecology*, 2020, 34(6): 1244—1256.
- [11] Li P F, Li W T, Dumbrell A J, et al. Spatial variation in soil fungal communities across paddy fields in subtropical China[J]. *mSystems*, 2020, 5(1), <https://doi.org/10.1128/msystems.00704-19>.
- [12] Watanabe T, Kimura M, Asakawa S. Community structure of methanogenic Archaea in paddy field soil under double cropping (rice-wheat) [J]. *Soil Biology and Biochemistry*, 2006, 38(6): 1264—1274.
- [13] Bai R, Wang J T, Deng Y, et al. Microbial community and functional structure significantly varied among distinct types of paddy soils but responded differently along gradients of soil depth layers[J]. *Frontiers in Microbiology*, 2017, 8: 945.
- [14] Zhou J Z, Ning D L. Stochastic community assembly: Does it matter in microbial ecology? *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2017, 81(4): 32.
- [15] Chase J M, Myers J A. Disentangling the importance of ecological niches from stochastic processes across scales[J]. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 2011, 366(1576): 2351—2363.
- [16] Assres H A, Selvarajan R, Nyoni H, et al. Diversity, Co-occurrence and implications of fungal communities in wastewater treatment plants[J]. *Scientific Reports*, 2019, 9: 14056.
- [17] Barberan A, Bates S T, Casamayor E O, et al. Using network analysis to explore co-occurrence patterns in soil microbial communities. *ISME Journal*, 2012, 6(2): 343—351.
- [18] de Vries F T, Manning P, Tallwin J R B, et al. Abiotic drivers and plant traits explain landscape-scale patterns in soil microbial communities[J]. *Ecology Letters*, 2012, 15(11): 1230—1239.
- [19] Jiang Y J, Liu M Q, Zhang J B, et al. Nematode grazing promotes bacterial community dynamics in soil at the aggregate level[J]. *The ISME Journal*, 2017, 11(12): 2705—2717.
- [20] Ma B, Wang H Z, Dsouza M, et al. Geographic patterns of co-occurrence network topological features for soil microbiota at continental scale in Eastern China[J]. *The ISME Journal*, 2016, 10(8): 1891—1901.
- [21] Iyer S, Killingback T, Sundaram B, et al. Attack robustness and centrality of complex networks[J]. *PLoS One*, 2013, 8(4): e59613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0059613>.
- [22] Liang M X, Liu F Z, Gao C, et al. Robustness analysis of the complex network[C]//2017 6th Data Driven Control and Learning Systems (DDCLS). May 26—27, 2017, Chongqing, China. IEEE, 2017: 638—643.
- [23] Hayatsu M, Tago K, Saito M. Various players in the nitrogen cycle: Diversity and functions of the microorganisms involved in nitrification and denitrification[J]. *Soil Science & Plant Nutrition*, 2008, 54(1): 33—45.
- [24] Lu R K. Analytical methods for soil and agro-chemistry[M]. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press, 2000. 鲁如坤. 土壤农业化学分析方法. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2000.
- [25] Yang Y C, Li M, Li H, et al. Specific and effective detection of anammox bacteria using PCR primers targeting the 16S rRNA gene and functional genes[J]. *Science of the Total Environment*, 2020, 734: 139387.
- [26] Caporaso J G, Kuczynski J, Stombaugh J, et al. QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data[J]. *Nature Methods*, 2010, 7(5): 335—336.
- [27] Huse S M, Huber J A, Morrison H G, et al. Accuracy and quality of massively parallel DNA pyrosequencing[J]. *Genome Biology*, 2007, 8(7): R143.
- [28] Edgar R C. Search and clustering orders of magnitude faster than BLAST[J]. *Bioinformatics*, 2010, 26(19): 2460—2461.
- [29] Pandit S N, Kolasa J, Cottenie K. Contrasts between habitat generalists and specialists: An empirical extension to the basic metacommunity framework[J]. *Ecology*, 2009, 90(8): 2253—2262.
- [30] Dixon P. VEGAN, a package of R functions for community ecology[J]. *Journal of Vegetation Science*, 2003, 14(6): 927—930.
- [31] Tucker C M, Shoemaker L G, Davies K F, et al. Differentiating between niche and neutral assembly in metacommunities using null models of β -diversity[J]. *Oikos*, 2016, 125(6): 778—789.
- [32] Cs'ardi G, Nepusz T. The igraph software package for complex network research. 2006.
- [33] Bastian M, Heymann S, Jacomy M. Gephi: An open source software for exploring and manipulating networks. 2014.
- [34] Blondel V D, Guillaume J L, Lambiotte R, et al. Fast unfolding of communities in large networks[J]. *Journal of Statistical Mechanics: Theory and Experiment*, 2008(10): P10008.
- [35] Fang J, Deng Y C, Che R X, et al. Bacterial community composition in soils covered by different vegetation types in the Yancheng tidal marsh[J]. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020, 27(17): 21517—21532.

- [36] Schneider C M, Moreira A A, Andrade J S, et al. Mitigation of malicious attacks on networks[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2011, 108 (10): 3838—3841.
- [37] Louca S, Parfrey L W, Doebeli M. Decoupling function and taxonomy in the global ocean microbiome[J]. Science, 2016, 353 (6305): 1272—1277.
- [38] Newman M E J. Modularity and community structure in networks[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103 (23): 8577—8582.
- [39] Zhao P Y, Liu J X, Jia T, et al. Assembly mechanisms of soil bacterial communities in subalpine coniferous forests on the Loess Plateau, China[J]. Journal of Microbiology, 2019, 57 (6): 461—469.
- [40] Monard C, Gantner S, Bertilsson S, et al. Habitat generalists and specialists in microbial communities across a terrestrial-freshwater gradient[J]. Scientific Reports, 2016, 6: 37719.
- [41] Gong L, Ran Q Y, He G X, et al. A soil quality assessment under different land use types in Keriya river basin, Southern Xinjiang, China[J]. Soil and Tillage Research, 2015, 146: 223—229.
- [42] Liu W J, Zhang J W, Qiu C W, et al. Study on community assembly processes under paddy-upland rotation[J]. Soils, 2020, 52 (4): 710—717. [刘文静, 张建伟, 邱崇文, 等. 水旱轮作对土壤微生物群落构建过程的影响机制[J]. 土壤, 2020, 52 (4): 710—717.]
- [43] Xian W D, Zhang X T, Li W J. Research status and prospect on bacterial *Phylum Chloroflexi*[J]. Acta Microbiologica Sinica, 2020, 60 (9): 1801—1820. [鲜文东, 张潇橦, 李文均. 绿弯菌的研究现状及展望[J]. 微生物学报, 2020, 60 (9): 1801—1820.]
- [44] Yuan H Z, Wu H, Ge T D, et al. Effects of long-term fertilization on bacterial and archaeal diversity and community structure within subtropical red paddy soils[J]. Chinese Journal of Applied Ecology, 2015, 26 (6): 1807—1813. [袁红朝, 吴昊, 葛体达, 等. 长期施肥对稻田土壤细菌、古菌多样性和群落结构的影响[J]. 应用生态学报, 2015, 26 (6): 1807—1813.]
- [45] Zhou J, Zhou L Z, Lao C Y, et al. Effects of short-term different tillage methods on the diversity of bacterial community in rice rhizosphere soils[J]. Journal of Southern Agriculture, 2020, 51 (10): 2401—2411. [周佳, 周灵芝, 劳承英, 等. 短期不同耕作方式对水稻根际土壤细菌群落结构多样性的影响[J]. 南方农业学报, 2020, 51 (10): 2401—2411.]
- [46] Cao Y, Wang T Y, Qin Y J, et al. Nitrogen removal characteristics and diversity of microbial community in ANAMMOX reactor[J]. Environmental Science, 2017, 38 (4): 1544—1550. [曹雁, 王桐屿, 秦玉洁, 等. 厌氧氨氧化反应器脱氮性能及细菌群落多样性分析[J]. 环境科学, 2017, 38 (4): 1544—1550.]
- [47] Sloan W T, Lunn M, Woodcock S, et al. Quantifying the roles of immigration and chance in shaping prokaryote community structure[J]. Environmental Microbiology, 2006, 8 (4): 732—740.
- [48] Fierer N, Jackson R B. The diversity and biogeography of soil bacterial communities[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2006, 103 (3): 626—631.
- [49] Lauber C L, Hamady M, Knight R, et al. Pyrosequencing-based assessment of soil pH as a predictor of soil bacterial community structure at the continental scale[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2009, 75 (15): 5111—5120.
- [50] Rousk J, Bååth E, Brookes P C, et al. Soil bacterial and fungal communities across a pH gradient in an arable soil[J]. The ISME Journal, 2010, 4 (10): 1340—1351.
- [51] Tripathi B M, Stegen J C, Kim M, et al. Soil pH mediates the balance between stochastic and deterministic assembly of bacteria[J]. The ISME Journal, 2018, 12(4): 1072—1083.
- [52] Heijden M G A, Wagg C. Soil microbial diversity and agro-ecosystem functioning[J]. Plant and Soil, 2013, 363 (1/2): 1—5.
- [53] Obayomi O, Seyoum M M, Ghazaryan L, et al. Soil texture and properties rather than irrigation water type shape the diversity and composition of soil microbial communities[J]. Applied Soil Ecology, 2021, 161: 103834.
- [54] Bickel S, Or D. The chosen few—variations in common and rare soil bacteria across biomes[J]. The ISME Journal, 2021, 15 (11): 3315—3325.
- [55] Tan W J, Wang J M, Bai W Q, et al. Soil bacterial diversity correlates with precipitation and soil pH in long-term maize cropping systems[J]. Scientific Reports, 2020, 10: 6012.
- [56] Cheng Q. Perspectives in biological nitrogen fixation research[J]. Journal of Integrative Plant Biology, 2008, 50 (7): 786—798.

(责任编辑: 檀满枝)